

Sôro contra o epithelioma ou diphteria das aves

pelo

Dr. H. Marques Lisboa

Lidando ha muito mais de um decennio com varias molestias produzidas por germes filtraveis, que interessam especialmente á veterinaria, adquiri a convicção de que taes germes formam um grupo bem homogeneo, cujos caracteres importantes se encontram nas relações de parasitismo, e que taes caracteres podem ser assim synthetisados:

1º. Todos os filtraveis são parasitas obrigatorios, isto é, só manifestam sua actividade vital no interior de um hospedeiro, embora se possam conservar em estado de vida latente, fora do organismo. As culturas, que ás vezes se conseguem em meios especiais são de curta duração e não figuram nas collecções dos melhores Institutos, por mais completas que sejam.

2º São muito exigentes quanto ao hospedeiro: a peste dos porcos é exclusiva dos suinos, a febre aphtosa só pode ser facilmete reproduzida em artiodactilos, o epithelioma contagioso das aves mostra difficuldades de transmissão mesmo entre as diversas especies de aves, etc.

3º Nos casos em que a exigencia é menos accentuada (raiva, variola etc.)

taes germes prestam-se facilmente a mutações: virus fixo, vaccina, etc. A raça assim obtida é vaccinante, e não se conhece outro meio seguro de se obter vaccina com filtraveis, porque os processos de attenuação applicaveis ás bacterias são aqui, de regra, muito falhos.

4º As manifestações morbidas, que provocam, são muitas vezes aggravadas pela associação com bacterias, em geral de fraca acção pathogenica: assim um paratyphico ou uma pasteurella intervêm na forma intestinal ou pulmonar da peste dos porcos (*Hog-cholera e swine plague*); na variola um estreptococo, e no epithelioma das avas um estafilococo, e assim por deante.

5º. O ataque ao organismo quando não é mortal, provoca immunidade, ás vezes de grande duração, como se dá na variola, no epithelioma das aves, na febre amarella, etc., e outras vezes de praso curto, como na febre aphtosa.

6º. As especies animais sensiveis ao germe produzem, contra este, sôro de valor real, como meio preventivo: assim sôro activo contra a febre aphtosa só pode ser obtido nos bovinos e suinos;

sôro contra a peste dos porcos só em porcos; sôro contra a variola dos carneiros só em ovinos, etc.

Este ultimo caracter é dos que na litteratura medica e veterinaria se encontram com algumas fallhas; assim é e que para o *epitelioma contagioso das aves* as conclusões são categoricas negando-se ao sôro qualquer valor curativo e preventivo. Para apoiar a ultima affirmação: "que as especies sensíveis produzem sôro preventivo", impunha-se em primeiro lugar a verificação com esta molestia, repetindo-se as experiencias já feitas por outros pesquisadores e evitando-se as causas do erro que poderiam ter dado margem aos resultados negativos. Ahi a razão do presente trabalho.

Os estudos realizados no Posto vieram mostrar que aqui, como em outros casos, esses erros são de duas naturezas: a insufficiencia de dôse e uma *pseudo* superimmunização.

a) *A insufficiencia de dôse.* Temos em geral uma certa tendencia para fazer as verificações dos sôros com dôses insufficientes, o que nos leva frequentemente a negar valor mesmo a sôros antibacterianos e antitoxicos de grande poder curativo, como o da peste bubonica, o do tetano, etc. Nos filtraveis, Moussu, preparando sôro contra a febre aphtosa com injecções de sangue virulento, obteve sôro seguramente de valor, mas experimentou o seu effeito com 50 cm.³ o que no caso d'elle deveria corresponder ao terço da dose efficaç. Mas, quando os experimentadores usam doses importantes, os resultados são positivos quer na febre aphtosa, quer nas outras molestias por filtraveis, a não ser que intervenha outra causa de erro. Assim:

Na vaccina, Raynaud, entre outros, conseguiu immunizar bezerros com 250 cm.³ de sôro de convalescente; e Strauss, Chambon e Ménard, com cerca de um litro (E' possivel que uma superimmunização intensa reduza esta ultima dôse

a cerca de um decimo; em outra publicação voltarei ao assumpto). Kunio Sato verificou a formação de anticorpos nos coelhos inoculados quer na pelle quer na cornea.

Na variola dos carneiros, Duclerc immunizou-os com 190 cm.³ de sôro de carneiro curado, e Borrel chegou mesmo a conseguir em carneiros sôro de valor pratico, pois immuniza na dose de 15 a 20 cm.³.

Na febre aphtosa, varios pesquisadores verificaram que o sôro dos animaes restabelecidos immunisava na dose de 1 litro e, Loeffler super-immunizando bovinos, baixou a dôse preventiva a 100 e 150 cm.³, dôse que pode ainda ser reduzida a menos de 80. sem concentração.

Na peste bovina, algumas centenas de centimeiros cubicos de sôro de animal convalescente já podem proteger, mas Kolle e Turner, Nicolle e Adil Bey e outros, pela superimmunização, reduziram a dôse á cerca de 20 cm.³.

Na peste dos porcos, o sôro fornecido pelos porcos superimmunizados é dos mais poderosos, pois já protege contra a infecção em dôses inferiores a 10 cm.³ mas, como todos os outros sôros contra filtraveis, a sua acção curativa é quasi nulla e somente apreciavel em dôses enormes e no inicio da molestia.

Na peste aviaria JUAN e STAUB conseguiram immunisar gallinhas com menos de 1 cm.³ de sôro preparado em gallinhas.

Na raiva, BABES conseguiu proteger sempre os cães, quando empregava sôro preparado em cães; MAGALHÃES conseguiu proteger bois com sôro preparado em bovinos (trabalho inedito realizado no Posto Experimental de B. Horizonte). Os sôros homologos são, como LOEFFLER e outros já verificaram, sempre mais poderosos do que os heterologos.

Nas molestias exclusivas do homem a verificação é mais difficil porque seria

necessario superimmunisar convalescentes, entretanto:

Na *polymyelitis acuta*, FLEXNER e LEWIS, LEVADITI e LANDSTEINER curaram macacos com sôro de convalescentes e de macacos superimmunizados; NETTER, GENDRON e TOURRAINE, NOLECOURT e DARRE', FLEXNER e ARROS conseguiram bons resultados na molestia humana empregando grandes dôses de sôro de convalescentes;

Na *variola* PROWAZECK e ARA-GÃO verificaram no sôro colhido no decimo segundo dia um certo poder viricida; a superimmunisação daria seguramente resultados mais positivos.

Na *febre amarella*, MARCHOUX, SALIMBENI e SIMOND verificaram que o sôro dos convalescentes é dotado de propriedades preventivas muito nitidas e talvez mesmo de algum poder therapeutico.

Na *escarlatina* EMIL REISS, além de outros, obteve bons resultados com sôro de convalescentes, injectando, antes do 4º dia de molestia, 100 cm.³ na veia e isso mesmo em casos graves.

b) A *pseudo-superimmunisação*, isto é, a colheita do sôro em individuos ainda doentes. Os portadores de virus ou melhor os eliminadores (*virus ausscheider*) parece que são sempre doentes, ainda que de manifestações chronicas insignificantes. Este facto, que tem sido verificado de varios lados na peste bovina, é facil de ser observado no epithelioma das aves. Uma gallinha aparentemente restabelecida, nutrindo-se bem, efectuando posturas, é considerada como inteiramente restabelecida; entretanto, si attentarmos bem, notaremos que, de quando em quando, ella sacode bruscamente a cabeça. Essa gallinha soffre de um ligeiro *corysa chronico*, e quer o liquido, quer o sangue são infectantes. Nessas condições pensa-se em uma *immunitas non sterilisans*, porque se obtem um sôro infectante.

Com o fim de verificar as falhas apontadas, foram apprehendidos no Pos-

to varios trabalhos. Os resultados obtidos com o epithelioma ou diphteria das aves, de mais facil experimentação, podem já ser publicados.

Quando se lida com um grande numero de pintos e gallinhas inoculados com epithelioma, não se pode ter duvidas sobre a identidade desta molestia com a diphteria das aves. Não só todos os pintos no periodo que precede a morte apresentam symptomas mais ou menos accentuados de diphteria, como tambem é frequente o apparecimento de placas diphtericas no decurso da boubá; além disso, não é de todo raro o apparecimento de casos em que as inoculações provocam exclusivamente diphteria. Nas gallinhas as inoculações de fortes dôses de epithelioma, feitas sob a pelle ou no peritono. provocam, de regra, diphteria.

Além dessa prova por inoculação, que já foi anteriormente estudada principalmente por S. VON RATZ e por UHLENHUT e MANTEUFEL (1910), as provas serologicas, que publicarei mais tarde, são confirmadoras dessa affirmação, embora MANTEUFEL inoculando 5 cm.³ de sôros de aves immunes não verificasse propriedades therapeuticas, o que não é de extranhar.

O preparo do sôro anti-epitheliomatoso está sendo feito actualmente só com material de epithelioma triturado em gral de pedra, coado em panno e finalmente filtrado em papel, technica semelhante á que já usamos no preparo do sôro antiaphtoso e outros ainda em estudos. Evitei, nesse caso, contrariamente ao que fazemos na febre aphtosa, a via intravenosa, embora a considere a melhor via para superimmunisações, porque no caso das gallinhas a sua difficuldade tira-lhe o valor pratico; preferi por isso as inoculações intraperitoneaes.

Para fugir aos eliminadores de virus, resolvi tomar sempre grandes lotes de

gallos ou galinhas, não muito novos, e fazer nelles uma primeira inoculação de prova. Apesar de se tratar de aves que pela idade já tiveram probabilidade de se infectar anteriormente, sou constantemente forçado a eliminar cerca de 50%, porque alguns adquirem diphtheria franca e outros manifestam a corysa chronico a que me referi.

As aves, que durante uma semana de observação cuidadosa não apresentam signaes de molestia, a não ser uma ligeira diarrhéa verde, são separadas para a superimmunisação. Esta é feita de accordo com a technica geral que adoptamos na pratica corrente para o preparo do sôro contra os filtraveis, com as modificações de dose e via de inoculação necessarias no caso a saber:

- 1ª. (Inoculação de prova) Inj. hypodermica de 0,1 gr. de bouba triturada e diluida em sol. physiologica, filtrada em panno e papel.
- 2ª. Inoculação, no peritoneo. de 0,5 gr. de boubas convenientemente trituras, diluidas e filtradas.
- 3ª. Inoculação intraperitoneal de 1 gr. do material referido.

4ª. Inoculação intraperitoneal de 2 gr. do material referido.

5ª. Inoculação intraperitoneal de 4 gr. do material referido.

As aves superimmunizadas são sacrificadas no decimo dia depois da 5ª. inoculação. O sôro obtido deve ser empregado no mesmo dia, porque a conservação com acido phenico provoca convulsões nos pintos novos, ás vezes mortaes e produz uma grande irritação no ponto de inoculação. O ajudante-chimico do Poslo, BAETA VIANNA, pretende corrigir esse defeito, substituindo essa substancia conservadora e alem disso effectuando a concentração pela redução do volume do sôro.

Os pintos escolhidos devem ser muito novos, para evitar os animaes que já se immunisaram por ataque anterior.

Os pintos de idade superior a tres mezes já resistem melhor á infecção, e mais ainda os frangos e aves adultas; estas curam-se sem tratamento.

Depois de varias tentativas cheguei a verificar que a dóse de 2,5 cm³, já protege quando inoculada previamente e ás vezes, ainda, quando injectada pouco depois do virus

Seguem-se alguns resumos das experiencias mais recentes.

I Serie

Pintos de um mez inoculados com 2,5 cm³. de sôro antiepitheliomatoso.

1—Inj. 5' depois do virus (esfregado na cabeça)	Nada soffreu	
2— « 10' « « « « «	« « « « « «	† (morte)
3— « 15' « « « « «	« « « « « «	†
4— « 20' « « « « «	« « « « « «	†
5— « 25' « « « « «	« « « « « «	†
6—Inoculado somente com bouba	« « « « « «	†

Só o pinto injectado 5 minutos depois do virus nada soffreu, todos os outros morreram dentro de 33 dias. Os pintos 4 e 5 tiveram boubas enormes, os outros boubas menores.

II Serie

Pintos de um mez inoculados com 3 cm³. de sôro antiepitheliomatoso e extracto de baço.

7—Inj. 15' antes do virus (esfregado na cabeça)	Nada
8—Idem	Nada

9—Inj. 15' depois do virus.....	Nada
10—Idem.....	†
11—Inj. 1 h. depois do virus.....	†
12—Idem.....	†
13—Inj. de extr. de baço 1 h. depois.....	†
14—Idem.....	†
15—Inoculado somente com virus.....	†
16—Idem.....	†

Os pintos que soffreram a injeção de sôro antes da inoculação do virus (por atrito na cabeça) não se infectaram, já a injeção feita 1/4 de hora depois do virus, só protegeu um dos dois inoculados, dahi por deante o efeito protector foi nullo. Os pontos 11 e 14 só apresentaram placas dipthericas, os outros boubas.

III Serie

Pintos de cerca de dois mezes inoculados com 2,4 e 6 cm³. de sôro anti-pitheliomatoso ou de sôro normal.

17—Inj. 2 h. antes (2 cm ³) e 1 h. antes (mais 2 cm ³).....	Nada
18—Idem.....	Nada
19—Idem com soro de gallinha normal.....	Bouba
20—Idem idem.....	Bouba
21—Inoc. somente com virus (esfregado na cabeça).....	Bouba

Nesta experiencia ainda o sôro se mostrou de valor preventivo absoluto.

IV Serie

Pintos de pouco mais de dois mezes inoculados com 2,4 e 6 cm³ de sôro anti ou de s. normal.

Injeções preventivas (sôro anti)

22—Inj. 2 cm ³ 24 h. antes do virus (inj. hypod.).....	Bouba
23—Idem.....	Nada
24—Inj. 2 cm ³ 24 h. e 21 h. antes do virus.....	} Nada
25—Idem..... total 4 cm ³	
26—Idem.....	} Nada
27—Idem.....	
28—Inj. 2 cm ³ 24 h. 21 h. e 18 h. antes do virus.....	} Nada
29—Idem..... total 6 cm ³	
30—Idem.....	
31—Idem.....	} Nada

Injeções preventivas (sôro normal)

32—Inj. 2 cm ³ sôro norm. 24 h. antes do virus.....	Bouba †
33—Inj. 2 cm ³ 24 h. e 2 cm ³ 21 h. antes do virus..... total 4 cm ³	} Bouba
34—Idem.....	
35—Inj. 2 cm ³ 24 h. 21 h. e 18 h. antes do virus..... total 6 cm ³	} Bouba
36—Idem.....	

Injecções curativas (sôro anti)

37—Inj. 2 cm ³ logo depois da inj. hypod. de virus.....	Nodulos
38—Idem.....	Bouba
39—Inj. 2 cm ³ mais 2 cm ³ depois da inj. de virus.....	} Nodulos
40—Idem..... total 4 cm ³	
41—Idem.....	} Nodulos
42—Idem.....	
43—Inj. 2 cm ³ mais 2 depois da inj. virus.....	} Nodulos
44—Idem..... total 6 cm ³	
45—Idem.....	} Nodulos
46—Idem.....	

Injecções curativas (sôro normal)

47—Inj. de 2 cm ³ logo depois da inj. de virus.....	Bouba
48—Inj. 2 cm ³ mais 2 depois da inj. virus..... total 4 cm ³	} Bouba †
49—Idem.....	
50—Inj. 2 cm ³ mais 2 e mais 2 depois do virus..... total 6 cm ³	} Bouba (sacrif.
51—Idem.....	

Testemunhas

52—Inoculado sómente com virus.....	Bouba †
53—Idem.....	Bouba
54—Idem.....	Bouba
55—Idem.....	Bouba
56—Idem.....	Bouba

Os pintos não supportam injecções de mais de 2 a 3 cm³. por isso nesta serie as injecções de 4 e 6 cm³. foram feitas em duas e tres vezes com intervallos approximados de tres horas.

Os nodulos que se observam no abdomen (ponto de injecção do sôro) dos pintos de numeros 38 a 46 parecem devidos ao acido phenico necessario á conservação do sôro, isso não se observou nos de numeros inferiores, que foram injectados com sôro fresco, nem nas testemunhas de sôro normal, tambem fresco.

Aqui, mais uma vez, o valor preventivo do sôro foi completo, quando a dose de sôro era de 4 a 6 cm³.

Podemos portanto concluir que é facil a obtenção de sôro contra o epithelioma das aves, desde que:

- 1º as aves em superimmunisação supportem as inoculações sem manifestações morbidas, ainda que ligeiras (coryza chronico, por exemplo).

2º que se verifique o poder do sôro immunisante com doses elevadas em relação ao peso do animal que se pretende proteger contra a infecção.

— — — — —

A simples passagem do material virulento atravez de panno e papel de filtro poderá parecer, á primeira vista, que prejudica a experimentação, mas não pretendi, de forma alguma, demonstrar a filtrabilidade do germe da diphteria das aves, isso já está brilhantemente feito por grandes pesquisadores; o meu intuito foi mostrar que as gallinhas superimmunizadas com material virulento fornecem sôro contra uma molestia de germe filtravel que parecia fugir ao principio

geral: Os germes filtráveis produzem,
de regra, sôro preventivo, quando ino-
culados de modo conveniente nos ani-

maes sensíveis á molestia de que são
causa.

Bello Horizonte, 21—Maio—1922